



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد خون شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون

عنوان

بررسی اثر ترکیب سنتزی جدید متشکل از گاباپنتین و ایندول-۳-کربالدهید بر بیان
ژن های مسیر نامیرایی، سیکل سلولی و آپوپتوز رده ی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک

حاد NALM-6

توسط

پریسا ملکی

استاد راهنما

دکتر غلامحسین حسن شاهی

اساتید مشاور

دکتر احمد فاطمی، دکتر علیرضا فارسی نژاد

دکتر علی دره کردی

شماره پایان نامه: 126

سال تحصیلی (بهمن ۹۹)

بررسی اثر ترکیب سنتزی جدید متشکل از گاباپنتین و ایندول-۳-کربالدهید بر بیان ژن‌های مسیر نامیرایی، سیکل سلولی و آپوپتوز رده ی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد (NALM-6)

چکیده

زمینه و هدف: بدخیمی لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL) به عنوان یک اختلال کلونال هماتولوژیک تعریف می‌شود که رده ی لنفوئیدی را درگیر می‌کند. ALL یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در کودکان به شمار می‌رود. علی‌رغم پیشرفت‌های قابل توجه در زمینه ی توسعه ی ترکیبات درمانی و پروتکل‌ها، از جمله شیمی درمانی برای ALL همراه با بهبود بقای بیمار، عوارض جانبی قابل توجه شیمی درمانی از جمله اثرات سمی بر بافت‌های غیرتوموری، مقاومت به شیمی‌درمانی و عود مجدد بیماری همچنان پابرجاست و لزوم کاربرد هدف‌های درمانی جدید به منظور کاهش چشمگیر این عوارض ناخواسته ضروری است. ترکیبات هتروسیکلیک از جمله ایندول‌ها به عنوان یک عامل القاکننده ی آپوپتوز و آنتی تومور حائز اهمیت می‌باشند. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات ایندول پایه (ایندول-۳-کربالدهید) و مشتق جدید آن، N-cyclohexyl-2-(1H-indol-3-yl)-2-، ارزیابی اثرات ایندول پایه (ایندول-۳-کربالدهید) و مشتق جدید آن، Bax, Bcl-2, cyclinD1, Oct4 بر بیان ژن‌های (3-oxo-2-azaspiro[4.5]decan-2-yl)acetamide در رده ی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد (NALM6) بود. این اصلاح ساختاری و افزودن گاباپنتین-3-cyclohexyl (3-cyclohexyl-GABA) به ساختار ایندول اصلی به عنوان آنالوگ چربی دوست GABA (گاما آمینوبوتیریک اسید) قابلیت عبور ترکیب جدید را از سد خونی مغزی فراهم می‌سازد.

روش‌ها: پس از کشت سلول‌های NALM6 سلول‌ها با غلظت‌های مختلف از ترکیب جدید (G.I) 25, 50, 100 μ M تیمار شدند و پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار، زنده‌مانی سلولی توسط آزمون دفع رنگ تریپان بلو، فعالیت متابولیک سلولی با روش رنگ سنجی MTT مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از روش فلوسایتومتری میزان آپوپتوز سلولی بررسی شد و تغییرات در سطح ژن با بررسی بیان ژن‌های Bcl-2, Bax, cyclinD1 و Oct4 با استفاده از تکنیک Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که افزودن گاباپنتین به ساختار ایندول پایه در ترکیب سنتزی G.I باعث بهبود اثربخشی آن شد. بنابراین ترکیب جدید بسیار اثربخش تر از ایندول-۳-کربالدهید بود. مشاهده شد که ترکیب G.I بطور قابل توجهی بیان ژن های Bax، cyclinD1 و Oct4 را کاهش داده و افزایش بیان ژن Bcl-2 را سبب شد.

نتیجه‌گیری: به خوبی ثابت شده که ساختار سیکلوهگزان گاباپنتین به افزایش چربی دوستی ترکیب جدید کمک کرده و اثربخشی ترکیب G.I را بهبود بخشیده و در نتیجه ممکن است بطور موثر این ترکیب سنتز شده‌ی جدید را قادر سازد تا بیان ژن‌های تحت مطالعه را تحت تاثیر قرار دهد. به طور کلی، گاباپنتین همچنین ممکن است برای استفاده به عنوان یک فرمولاسیون پزشکی ارزشمند و حامل دارویی برای اتصال سایر ترکیبات درمانی قابل استفاده باشد. گاباپنتین همچنین احتمالاً می تواند به عنوان یک عنصر انتقال دهنده دارو یا به عنوان ترکیبی که به صورت ناقل و انتقال دهنده داروهای دیگر از طریق سد خونی مغزی و تحویل دارو عمل می کند ، تاثیرگذار باشد.

کلید واژه‌ها: ایندول ، لوسمی لنفوبلاستیک حاد ، گاباپنتین.



**Kerman University
of Medical Science**

Faculty of ParaMedicine

In Partial Fulfilment of the Requirements For The Degree MSc

Title:

**Evaluation of the effect of new synthetic compound of
Gabapentin and I3CHO on expression of immortality, cell cycle
and apoptosis genes in acute lymphoblastic leukemia (NALM6)**

By:

Parisa Maleki

Supervisor:

Dr. G. Hassanshahi

Advisors:

Dr. Ahmad Fatemi

Dr. Alireza Farsinezhad

Dr. Ali Darekordi

Thesis No: (126)

Date (Feb, 2021)

Evaluation of the effect of new synthetic compound of Gabapentin and I3CHO on expression of immortality, cell cycle and apoptosis genes in acute lymphoblastic leukemia (NALM6)

Abstract

Background: The malignancy of acute lymphoblastic leukemia (ALL) is defined as a clonal hematologic disorder that involves lymphoid lineage. ALL is one of the most frequent childhood malignancies. Despite, considerable progresses, regarding development of therapeutic compounds and protocols, including chemotherapy for ALL and alongside with improvement in patient's survival, significant side effects of chemotherapy, such as cytotoxic effects on non-tumorized tissues, chemotherapy resistance and relapsed diseases, are still present. Application of new therapeutic methods are paramountly deserved to remarkably reduce these unwanted adverse effects.

Heterocyclic compounds, such as indole family, are considered as both apoptosis inducers as well as anti-tumor agents. Present study was aimed to evaluate the effects of basal indole (the indole ordinary structure) and its new derivative, N-cyclohexyl-2-(1H-indol-3-yl)-2-(3-oxo-2-azaspiro[4.5]decan-2-yl)acetamide (G.I), on the expression of Bax, Bcl-2, cyclin-D1 and OCT-4 in acute lymphoblastic leukemia cell line (NALM-6). This Structural modification and addition of Gabapentin (3-cyclohexyl-GABA) to the original indole structure as a lipophilic analogue of GABA, enable this new compound to penetrate and cross the blood-brain barrier.

Methods: Cells were cultured and treated with various concentrations of the new compound (as 25, 50 and 100 μ m) and DMF, as a vehicle control, for 24, 48 and 72 hours. Cellular proliferation was evaluated, employing trypan blue dye-exclusion and MTT assay methods. The percentage of apoptotic cells was achieved by flowcytometry analysis using the Annexin V/PI apoptosis detection kit. Changes in the expression of bax, bcl-2, cyclin-D and oct-4 genes were also examined by the Real Time PCR technique.

Results: The results of the present study have demonstrated that the addition of gabapentin to the basal indole structure in this synthesized compound (G.I) resulted in improved performance, so that this new compound was more effective than the basal indole. We found that G.I has remarkably reduced the expression of Bax, cyclin-D1 and Oct4 while induced expression of Bcl2, in a reverse fashion.

Conclusion: It was well established that the cyclohexane structure of gabapentin aid this

compound to increase its related lipophilicity properties and hence improve the effectiveness of indole-G compound and as a result may probably effectively enables this novel synthesized (indole-G) to effects the expression of the studied and examined genes. Overall, Gabapentin may also possibly be applicable to serve as a valuable medical formulation and pharmaceutical carrier to bind other therapeutical compounds. Gabapentin is also possibly able to serve either as a drug delivery element or as a combination that acts as a carrier and transmitter of other drugs through the blood-brain barrier and drug delivery.

Keywords: Indole, Acute lymphoblastic Leukaemia, Gabapentine,

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه و اهداف	
۱-۱. بیان مسأله و اهمیت موضوع.....	۲
۱-۲. لوسمی و انواع آن.....	۲
۱-۳. لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL).....	۳
۱-۳-۱. اپیدمیولوژی.....	۳
۱-۳-۲. تظاهرات بالینی.....	۳
۱-۳-۳. تشخیص.....	۴
۱-۳-۴. اتیولوژی.....	۴
۱-۳-۵. درمان.....	۴
۱-۴. ترکیبات ایندولی.....	۵
۱-۵. گاباپنتین (GBP).....	۵
۱-۶. ترکیب سنتزی متشکل از ایندول و گاباپنتین (G.I).....	۵
۱-۷. آپویتوز.....	۷
۱-۸. قابلیت خودنوسازی یا self-renewality.....	۸
۱-۹. چرخه‌ی سلولی.....	۸
۱-۱۰. اهداف پژوهش.....	۱۲
۱-۱۰-۱. هدف کلی پژوهش:.....	۱۲
۱-۱۰-۲. اهداف جزئی پژوهش:.....	۱۲
۱-۱۰-۳. اهداف کاربردی پژوهش:.....	۱۳
۱-۱۱. فرضیات یا سوالات پژوهش:.....	۱۶
فصل دوم: بررسی متون	
۲-۱. مروری بر مطالعات گذشته.....	۱۶

فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۱-۳. مواد و روش‌ها ۱۷
- ۱-۱-۳. دستگاه‌های مورد استفاده جهت انجام آزمایش ۱۷
- ۲-۱-۳. مواد مورد استفاده جهت انجام آزمایش ۱۸
- ۲-۳. نوع مطالعه ۱۹
- ۳-۳. روش‌ها و تکنیک‌های انجام شده ۱۹
- ۴-۳. آماده سازی محلول‌ها ۱۹
- ۱-۴-۳. تهیه محلول PBS ۲۱
- ۲-۴-۳. تهیه بافر TAE 10x ۲۱
- ۳-۴-۳. تهیه محیط کشت RPMI-1640 ۲۲
- ۴-۴-۳. آماده سازی داروها ۲۲
- ۵-۳. کشت سلولی ۲۳
- ۱-۵-۳. ردهی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد ۲۴
- ۲-۵-۳. کشت و پاساژ سلولی ۲۴
- ۳-۵-۳. روش کار: ۲۵
- ۶-۳. تیمار سلولی با ایندول-۳-کربالدهید، گاباپنتین، ترکیب دو دارو و ترکیب سنتزی متشکل از ایندول و گاباپنتین G.I ۲۷
- ۱-۶-۳. تیمار سلولی: ۲۷
- ۷-۳. بررسی زنده مانی سلول‌ها با آزمون دفع رنگ تریپان بلو ۲۷
- ۱-۷-۳. مواد و وسایل مورد نیاز: ۲۸
- ۲-۷-۳. روش کار: ۲۹
- ۸-۳. بررسی فعالیت متابولیک با روش MTT ۳۰
- ۱-۸-۳. مواد و وسایل مورد نیاز: ۳۱
- ۲-۸-۳. روش کار: ۳۱
- ۹-۳. بررسی آپوپتوز ۳۲

۳۲.....	۳-۹-۱. مواد و وسایل مورد نیاز
۳۳.....	۳-۹-۲. روش کار
۳۴.....	۳-۱۰. بررسی بیان ژن با Quantitative Real- time PCR
۳۵.....	3-10-1. استخراج RNA
۳۵.....	۳-۱۰-۲. تعیین خلوص و غلظت RNA استخراج شده
۳۷.....	۳-۱۰-۳. کنترل کیفیت RNA استخراج شده
۳۷.....	۳-۱۰-۴. سنتز cDNA
۳۸.....	۳-۱۰-۵. طراحی پرایمر
۳۸.....	۳-۱۰-۶. تکثیر به روش Real Time PCR
	۳-۱۱. جداسازی سلول های تک هسته ای خون محیطی جهت بررسی اثر توکسیسیتی داروها بر سلول های نرمال
۳۸.....	۳-۱۱-۱. مواد و وسایل مورد نیاز
۳۹.....	۳-۱۱-۲. روش کار:
۳۹.....	۳-۱۲. روش تجزیه و تحلیل آماری
۴۰.....	۳-۱۳. مکان و زمان انجام مطالعه
۴۰.....	۳-۱۴. مشکلات و محدودیت ها

فصل چهارم: یافته ها

۴۱.....	۴-۱. خصوصیات ظاهری سلول های رده سلولی NALM-6 :
۴۱.....	۴-۲. بررسی زنده مانی سلولی بعد از تیمار با گاباپنتین، ایندول-۳-کربالدهید و ترکیب سنتزی جدید
	۴-۳. بررسی فعالیت متابولیک سلولی با آزمون رنگ سنجی MTT پس از تیمار سلول های NALM-6 با داروهای I3CHO، GBP و ترکیب سنتز شده ی متشکل از گاباپنتین و ایندول (G.I)
۴۲.....	۴-۴. القای آپوپتوز توسط ترکیب سنتز شده ی جدید G.I و دوزهای مجزا و ترکیبی GBP و I3CHO
	۴-۵. تغییر بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز، چرخه ی سلولی و نامیرایی توسط ترکیب سنتز شده ی متشکل از ایندول و گاباپنتین (G.I) و دوزهای ترکیبی و مجزای GBP و I3CHO
۴۳.....	۴-۶. اثر داروهای I3CHO و GBP و ترکیب سنتز شده G.I بر مرگ سلولهای طبیعی انسانی
۴۴.....	۴۵-۱. بحث

۴۶..... ۵-۲. نتیجه گیری

۴۶..... ۵-۳. پیشنهادات

منابع و مآخذ

فهرست جداول

جدول ۱-۱. طبقه بندی WHO در سال ۲۰۰۸.....	۶
جدول ۱-۲. طبقه بندی WHO در سال ۲۰۱۶.....	۷
جدول ۳-۱. دستگاه های مورد استفاده برای انجام آزمایشات	۲۶
جدول ۳-۲. جدول مربوط به مواد مورد استفاده جهت انجام آزمایش	۲۷
جدول ۳-۳. ویژگی های رده ی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد به کار گرفته شده در مطالعه (NALM-6).....	۳۱
جدول ۳-۴. جدول مربوط به مشخصات پرایمرهای مورد استفاده، طول باندهای هر ژن	۴۴
جدول ۳-۵. دستورالعمل شرکت AMPLIQON جهت تهیه master mix نهایی.....	۴۶
جدول ۳-۶. نحوه تهیه مسترمیکس واکنش Real time PCR.....	۴۶
جدول ۳-۷. برنامه زمانی مورد استفاده برای واکنش Real time PCR	۴۷

فهرست اشکال

- شکل ۱-۱. بیوسنتز وابسته به تریپتوفان IAA و GBR و تولید I3CHO..... ۱۲
- شکل ۱-۲. ساختار ترکیب جدید متشکل از ایندول-۳-کربالدهید و گاباپنتین..... ۱۳
- شکل ۳-۱. نمودارهای ریل تایم بر حسب CT..... ۳۸
- شکل ۳-۲. سیستم SYBR GREEN در Real-time PCR..... ۳۹
- شکل ۳-۳. نتیجه ی حاصل از بررسی کمیت نمونه ی RNA با دستگاه نانو دراپ..... ۴۱
- شکل ۳-۴. حضور باندهای 28s، 18s، 5s دال بر کیفیت RNA استخراج شده..... ۴۳
- شکل ۴-۱. مورفولوژی سلولهای NALM-6 در بزرگنمایی مختلف زیر میکروسکوپ..... ۵۰
- شکل ۴-۲. نتایج فلوسایتومتری سلولهای تیمار شده با داروهای ایندول، گاباپنتین و ترکیب سنتز شده G.I..... ۵۷
- شکل ۴-۳. نمودارهای تکثیر ژن در سلول های تیمار شده..... ۶۴

فهرست نمودارها

- نمودار ۱-۴. اثر وابسته به دوز و زمان I3CHO (A)، GBP (B)، G.I (C) بر زنده مانی سلول ها ۵۲
- نمودار ۲-۴. اثر ترکیب دارویی GBP و I3CHO بر زنده مانی سلولهای NALM-6 ۵۴
- نمودار ۳-۴. بررسی فعالیت متابولیک سلولی با آزمون MTT در سلولهای NALM-6 تیمار شده با ۵۵
- نمودار ۴-۴. اثر سیتوتوکسیک القا شده توسط ترکیب سنتزی جدید و دوزهای مجزا و ترکیبی GBP و I3CHO ۵۸
- نمودار ۵-۴. مقایسه‌ی آپوپتوز سلول های NALM6 تیمار شده با G.I و I3CHO ۵۸
- نمودار ۶-۴. تغییرات بیان ژن Bcl2 در سلول های NALM-6 ۶۰
- نمودار ۷-۴. تغییرات بیان ژن Bax در سلول های NALM-6 ۶۱
- نمودار ۸-۴. نسبت BAX/BCL2 در سلول های NALM-6 ۶۱
- نمودار ۹-۴. تغییرات بیان ژن cyclind1 در سلول های NALM-6 ۶۲
- نمودار ۱۰-۴. اثر داروی ZM بر مرگ سلول های نرمال انسانی (PBMC) ۶۴

1. Keyghobadi N, Rafiemanesh H, Mohammadian-Hafshejani A, Enayatradd M, Salehiniya H. Epidemiology and trend of cancers in the province of Kerman: southeast of Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015;16(4):1409-13.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*. 2015;136(5):E359-E86.
3. Grada Z, Paquette C, Eklund CM, Zhang C, Sung CJ, Steinhoff M, et al. Evaluating the age cutoff criterion for reporting benign-appearing endometrial cells in routine pap tests: an 8-year retrospective review. *Acta Cytologica*. 2017;61(3):194-8.
4. Farasani A. Genetic variants of glutathione S-transferase and the risk of acute myeloid leukemia in a Saudi population. *Saudi journal of biological sciences*. 2019;26(7):1525-30.
5. SOARES AA, CAMPOS DAI, DE SOUZA RPCD, FORTES VA, PEREIRA SV, FERREIRA M. CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF LEUKEMIAS. *REVISTA CUBANA DE HEMATOLOGIA, INMUNOLOGIA Y HEMOTERAPIA*. 2017;33(2).
6. Stewart B, Wild C. World cancer report 2014. Geneva: World Health Organization; 2014.
7. Pieters R, Carroll WL. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Clinics of North America*. 2008;55(1):1-20.
8. Redaelli A, Laskin B, Stephens J, Botteman M, Pashos C. A systematic literature review of the clinical and epidemiological burden of acute lymphoblastic leukaemia (ALL). *European journal of cancer care*. 2005;14(1):53-62.
9. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood cancer journal*. 2017;7(6):e577.
10. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood cancer journal*. 2017;7(6):e577-e.
11. Shah A, Coleman M. Increasing incidence of childhood leukaemia: a controversy re-examined. *British journal of cancer*. 2007;97(7):1009-12.
12. Del Principe MI, Maurillo L, Buccisano F, Sconocchia G, Cefalo M, De Santis G, et al. Central nervous system involvement in adult acute lymphoblastic leukemia: diagnostic tools, prophylaxis, and therapy. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2014;6(1).
13. Jabbour EJ, Faderl S, Kantarjian HM, editors. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Mayo Clinic Proceedings*; 2005: Elsevier.
14. Muwakkit S, Al-Aridi C, Samra A, Saab R, Mahfouz RA, Farra C, et al. Implementation of an intensive risk-stratified treatment protocol for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia in Lebanon. *American journal of hematology*. 2012;87(7):678-83.
15. Pui C-H. Acute lymphoblastic leukemia: Springer; 2011.
16. Richard-Carpentier G, Kantarjian H, Jabbour E. Recent advances in adult acute lymphoblastic leukemia. *Current hematologic malignancy reports*. 2019;14(2):106-18.
17. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*. 2013;381(9881):1943-55.
18. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2014;6(1).
19. Healy J, Richer C, Bourgey M, Kritikou EA, Sinnett D. Replication analysis confirms the association of ARID5B with childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2010;95(9):1608-11.
20. Wartenberg D, Groves FD, Adelman AS. Acute lymphoblastic leukemia: epidemiology and etiology. *Acute Leukemias*: Springer; 2008. p. 77-93.
21. Alvarnas JC, Brown PA, Aoun P, Ballen KK, Barta SK, Borate U, et al. Acute lymphoblastic leukemia, version 2.2015. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2015;13(10):1240-79.

22. Vrooman LM, Silverman LB. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: prognostic factors and clinical advances. *Current hematologic malignancy reports*. 2016;11(5):385-94.
23. Leoni V, Biondi A. Tyrosine kinase inhibitors in BCR-ABL positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2015;100(3):295.
24. Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood*. 2015;125(26):3977-87.
25. Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015;125(26):4017-23.
26. Aldoss I, Stein AS. Advances in adult acute lymphoblastic leukemia therapy. *Leukemia & Lymphoma*. 2018;59(5):1033-50.
27. Mohseni M, Uludag H, Brandwein JM. Advances in biology of acute lymphoblastic leukemia (ALL) and therapeutic implications. *American journal of blood research*. 2018;8(4):29.
28. Bhojwani D, Sabin ND, Pei D, Yang JJ, Khan RB, Panetta JC, et al. Methotrexate-induced neurotoxicity and leukoencephalopathy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology*. 2014;32(9):949.
29. Jabbour E, O'Brien S, Konopleva M, Kantarjian H. New insights into the pathophysiology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*. 2015;121(15):2517-28.
30. Saini RK, Chouhan R, Bagri LP, Bajpai A. Strategies of targeting tumors and cancers. *Journal of Cancer Research Updates*. 2012;1(1).
31. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell*. 2015;161(2):205-14.
32. Mar BG, Bullinger LB, McLean KM, Grauman PV, Harris MH, Stevenson K, et al. Mutations in epigenetic regulators including SETD2 are gained during relapse in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Nature communications*. 2014;5(1):1-6.
33. Popolo A, Pinto A, Daglia M, Nabavi SF, Farooqi AA, Rastrelli L, editors. Two likely targets for the anti-cancer effect of indole derivatives from cruciferous vegetables: PI3K/Akt/mTOR signalling pathway and the aryl hydrocarbon receptor. *Seminars in cancer biology*; 2017: Elsevier.
34. Martín-Ruiz A, Peña L, González-Gil A, Díez-Córdova LT, Cáceres S, Illera JC. Effects of indole-3-carbinol on steroid hormone profile and tumor progression in a mice model of canine inflammatory mammary cancer. *BMC cancer*. 2018;18(1):1-9.
35. Chen L, Cheng P-H, Rao X-M, McMasters KM, Zhou HS. Indole-3-carbinol (I3C) increases apoptosis, represses growth of cancer cells, and enhances adenovirus-mediated oncolysis. *Cancer biology & therapy*. 2014;15(9):1256-67.
36. Kaushik NK, Kaushik N, Attri P, Kumar N, Kim CH, Verma AK, et al. Biomedical importance of indoles. *Molecules*. 2013;18(6):6620-62.
37. Darehkordi A, Rahmani F, Hashemi V. Synthesis of new trifluoromethylated indole derivatives. *Tetrahedron Letters*. 2013;54(35):4689-92.
38. مونا زع, فرید عج. تشخیص زودهنگام سرطان و پروتئومیکس.
39. Gomez-Ruiz S, Kaluđerović GN, Prashar S, Polo-Ceron D, Fajardo M, Žižak Ž, et al. Cytotoxic studies of substituted titanocene and ansa-titanocene anticancer drugs. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2008;102(8):1558-70.
40. تاثیر ایندول و ۵-هیدروکسی ایندول ۲- پرچهری, آزاده اح, فرزانه آ, معصومه ن, نسیم حر. بررسی کربکسیلیک اسید بر روی رت های غیر دیابتی و دیابتی شده با آلوکسان.
41. Ahmad A, A Sakr W, Wahidur Rahman K. Anticancer properties of indole compounds: mechanism of apoptosis induction and role in chemotherapy. *Current drug targets*. 2010;11(6):652-66.
42. Revelou P-K, Kokotou MG, Constantinou-Kokotou V. Determination of indole-type phytonutrients in cruciferous vegetables. *Natural Product Research*. 2018:1-4.
43. Kukkar A, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Implications and mechanism of action of gabapentin in neuropathic pain. *Archives of pharmacal research*. 2013;36(3):237-51.

44. Chang CY, Challa CK, Shah J, Eloy JD. Gabapentin in acute postoperative pain management. *BioMed research international*. 2014;2014.
45. Anfuso CD, Olivieri M, Fidilio A, Lupo G, Rusciano D, Pezzino S, et al. Gabapentin attenuates ocular inflammation: in vitro and in vivo studies. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8:173.
46. Reddy DS. An enigmatic role of tonic inhibition in gabapentin therapy. *EBioMedicine*. 2019;42:14-5.
47. Choi Y, Abdelmegeed MA, Song B-J. Preventive effects of indole-3-carbinol against alcohol-induced liver injury in mice via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic mechanisms: Role of gut-liver-adipose tissue axis. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2018;55:12-25.
48. Peduto A, Bruno F, Dehm F, Krauth V, de Caprariis P, Weinigel C, et al. Further studies on ethyl 5-hydroxy-indole-3-carboxylate scaffold: Design, synthesis and evaluation of 2-phenylthiomethyl-indole derivatives as efficient inhibitors of human 5-lipoxygenase. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;81:492-8.
49. Pfeifer BL, Fahrenndorf T. Indole-3-carbinol: a glucosinolate derivative from cruciferous vegetables for prevention and complementary treatment of breast cancer. *Deut Z Onk*. 2015;47:20-7.
50. Chang H, Wang M, Hsu C, Liu M, Chan M, Chen Y-H. Suppression of inflammation-associated factors by indole-3-carbinol in mice fed high-fat diets and in isolated, co-cultured macrophages and adipocytes. *International journal of obesity*. 2011;35(12):1530-8.
51. Fares F. The anti-carcinogenic effect of indole-3-carbinol and 3, 3'-diindolylmethane and their mechanism of action. *Med chem S*. 2014;1:2161-0444.
52. Safa M, Jafari L, Alikarami F, Manafi Shabestari R, Kazemi A. Indole-3-carbinol induces apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells through suppression of STAT5 and Akt signaling pathways. *Tumor Biology*. 2017;39(6):1010428317705768.
53. Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. *Oncogene*. 2003;22(53):8590-607.
54. Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *science*. 2004;305(5684):626-9.
55. Große L, Wurm CA, Brüser C, Neumann D, Jans DC, Jakobs S. Bax assembles into large ring-like structures remodeling the mitochondrial outer membrane in apoptosis. *The EMBO journal*. 2016;35(4):402-13.
56. Fesik SW, Shi Y. Controlling the caspases. *Science*. 2001;294(5546):1477-8.
57. Murphy K, Ranganathan V, Farnsworth M, Kavallaris M, Lock RB. Bcl-2 inhibits Bax translocation from cytosol to mitochondria during drug-induced apoptosis of human tumor cells. *Cell Death & Differentiation*. 2000;7(1):102-11.
58. Delbridge A, Strasser A. The BCL-2 protein family, BH3-mimetics and cancer therapy. *Cell death and differentiation*. 2015;22(7):1071.
59. Asadi MH, Khalifeh K, Mowla SJ. OCT4 spliced variants are highly expressed in brain cancer tissues and inhibition of OCT4B1 causes G2/M arrest in brain cancer cells. *Journal of neuro-oncology*. 2016;130(3):455-63.
60. Karimabad MN, Mahmoodi M, Jafarzadeh A, Darehkordi A, Hajizadeh MR, Khorramdelazad H, et al. Evaluating of OCT-4 and NANOG was differentially regulated by a new derivative indole in leukemia cell line. *Immunology letters*. 2017;190:7-14.
61. Liu L, Huang R, Yang R, Wei X. OCT4B1 Regulates the Cellular Stress Response of Human Dental Pulp Cells with Inflammation. *BioMed Research International*. 2017;2017.
62. Assadollahi V, Gholami M, Zendedel A, Afsartala Z, Jahanmardi F. Comparison of OCT4, SOX2 and NANOG expression in pancreatic cancer cell lines and human pancreatic tumor. 2015.
63. Yang F, Zhang J, Yang H. Oct4, sOX2, and nanOg positive expression correlates with poor differentiation, advanced disease stages, and worse overall survival in her2+ breast cancer patients. *OncoTargets and therapy*. 2018;11:7873.

64. Mirzaei MR, Mahmoodi M, Hassanshahi G, Ahmadi Z. Down-regulation of anti-apoptotic genes in tumor cell lines is facilitated by suppression of OCT4B1. *Advances in Medical Sciences*. 2017;62(1):97-102.
65. Abdullah JM, Ahmad F, Ahmad KAK, Ghazali MM, Jaafar H, Ideris A, et al. Molecular genetic analysis of BAX and cyclin D1 genes in patients with malignant glioma. *Neurological research*. 2007;29(3):239-42.
66. Ramos-García P, González-Moles MÁ, Ayén Á, González-Ruiz L, Ruiz-Ávila I, Lenouvel D, et al. Asymmetrical proliferative pattern loss linked to cyclin D1 overexpression in adjacent non-tumour epithelium in oral squamous cell carcinoma. *Archives of oral biology*. 2019;97:12-7.
67. Xie M, Zhao F, Zou X, Jin S, Xiong S. The association between CCND1 G870A polymorphism and colorectal cancer risk: A meta-analysis. *Medicine*. 2017;96(42).
68. Zhong Q, Hu Z, Li Q, Yi T, Li J, Yang H. Cyclin D1 silencing impairs DNA double strand break repair, sensitizes BRCA1 wildtype ovarian cancer cells to olaparib. *Gynecologic oncology*. 2018.
69. Mohanty A, Sandoval N, Das M, Pillai R, Chen L, Chen RW, et al. CCND1 mutations increase protein stability and promote ibrutinib resistance in mantle cell lymphoma. *Oncotarget*. 2016;7(45):73558.
70. Cao L, Zhang P, Li J, Wu M. LAST, a c-Myc-inducible long noncoding RNA, cooperates with CNBP to promote CCND1 mRNA stability in human cells. *eLife*. 2017;6:e30433.
71. Goede V, Cramer P, Busch R, Bergmann M, Stauch M, Hopfinger G, et al. Interactions between comorbidity and treatment of chronic lymphocytic leukemia: results of German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group trials. *Haematologica*. 2014;99(6):1095.
72. Boraei AT, Ghabbour HA, Gomaa MS, El Ashry ESH, Barakat A. Synthesis and anti-proliferative assessment of triazolo-thiadiazepine and triazolo-thiadiazine scaffolds. *Molecules*. 2019;24(24):4471.
73. Aggarwal BB, Ichikawa H. Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives. *Cell cycle*. 2005;4(9):1201-15.
74. Maruthanila VL PJ, Mirunalini S, Maruthanila. 2014.
75. Cury NM, Capitaio RM, de Almeida RdCB, Artico LL, Correa JR, dos Santos EFS, et al. Synthesis and evaluation of 2-carboxy indole derivatives as potent and selective anti-leukemic agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2019;181:111570.
76. Sheikhrezaei Z, Heydari P, Farsinezhad A, Fatemi A, Falahati-Pour SK, Darakhshan S, et al. A new indole derivative decreased SALL4 gene expression in acute promyelocytic leukemia cell line (NB4). *Iranian biomedical journal*. 2018;22(2):99.
77. توسلی، بهناز، صفا، کاظمی. اثر سینرژستی ایندول تری کریینول با دوکسوروبیسین در افزایش القای آپوپتوز. *مجله پی‌اورد سلامت*. ۲۰۱۵؛ ۸(۵):۳۶۸-۷۸ (NALM-6). بر رده سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد.
78. Sufi SA, Adigopula LN, Syed SB, Mukherjee V, Coumar MS, Rao HSP, et al. In-silico and in-vitro anti-cancer potential of a curcumin analogue (1E, 6E)-1, 7-di (1H-indol-3-yl) hepta-1, 6-diene-3, 5-dione. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;85:389-98.
79. Hamdy R, Ziedan NI, Ali S, Bordoni C, El-Sadek M, Lashin E, et al. Synthesis and evaluation of 5-(1H-indol-3-yl)-N-aryl-1, 3, 4-oxadiazol-2-amines as Bcl-2 inhibitory anticancer agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2017;27(4):1037-40.
80. Wang C-C, Liu HE, Lee Y-L, Huang Y-W, Chen Y-J, Liou J-P, et al. MPT0B169, a novel tubulin inhibitor, induces apoptosis in taxol-resistant acute myeloid leukemia cells through mitochondrial dysfunction and Mcl-1 downregulation. *Tumor Biology*. 2016;37(5):6065-72.
81. Noroozi MK, Mahmoodi M, Jafarzadeh A, Darehkordi A, Hajizadeh MR, Khorramdelazad H, et al. Indole itself and its novel derivative affect PML cells proliferation via controlling the expression of cell cycle genes. *Cellular and Molecular Biology*. 2019;65(3):41-7.
82. Siddiqui SK, SahayaSheela VJ, Kolluru S, Pandian GN, Santhoshkumar TR, Dan VM, et al. Discovery of 3-(benzofuran-2-ylmethyl)-1H-indole derivatives as potential autophagy inducers in cervical cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2020;30(19):127431.

83. Iacopetta D, Catalano A, Ceramella J, Barbarossa A, Carocci A, Fazio A, et al. Synthesis, anticancer and antioxidant properties of new indole and pyranoindole derivatives. *Bioorganic Chemistry*. 2020;105:104440.
84. Mohammadi S, Seyedhosseini FS, Behnampour N, Yazdani Y. Indole-3-carbinol induces G1 cell cycle arrest and apoptosis through aryl hydrocarbon receptor in THP-1 monocytic cell line. *Journal of receptors and signal transduction*. 2017;37(5):506-14.
85. Sauerbier. Effect of gabapentin-lactam and gamma-aminobutyric acid/lactam analogs on proliferation and phenotype of ovine mesenchymal stem cells. 2013.
86. Lee B-S, Jun I-G, Kim S-H, Park JY. Intrathecal gabapentin increases interleukin-10 expression and inhibits pro-inflammatory cytokine in a rat model of neuropathic pain. *Journal of Korean medical science*. 2013;28(2):308-14.
87. Renault TT, Teijido O, Antonsson B, Dejean LM, Manon SJTijob, biology c. Regulation of Bax mitochondrial localization by Bcl-2 and Bcl-xL: Keep your friends close but your enemies closer. 2013;45(1):64-7.
88. Kreile M, Piekuse L, Rots D, Dobeles Z, Kovalova Z, Lace B. Analysis of possible genetic risk factors contributing to development of childhood acute lymphoblastic leukaemia in the Latvian population. *Archives of medical science: AMS*. 2016;12(3):479.
89. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. 2017. 2017.
90. Vasku A, Tschöplová S, Muzik J, Soucek M, Vacha J. Association of three polymorphisms in the gene coding for endothelin-1 with essential hypertension, overweight and smoking. *Experimental & Clinical Cardiology*. 2002;7(4):201.
91. Galmarini D, Galmarini CM, Galmarini FC. Cancer chemotherapy: a critical analysis of its 60 years of history. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2012;84(2):181-99.
92. Pogorzala M, Kubicka M, Rafinska B, Wysocki M, Styczynski J. Drug-resistance profile in multiple-relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Anticancer research*. 2015;35(10):5667-70.
93. Shorey LE, Hagman AM, Williams DE, Ho E, Dashwood RH, Benninghoff AD. 3, 3'-Diindolylmethane Induces G 1 Arrest and Apoptosis in Human Acute T-Cell Lymphoblastic Leukemia Cells. *PloS one*. 2012;7(4):e34975.
94. Song Z, Chen C-P, Liu J, Wen X, Sun H, Yuan H. Design, synthesis, and biological evaluation of (2E)-(2-oxo-1, 2-dihydro-3H-indol-3-ylidene) acetate derivatives as anti-proliferative agents through ROS-induced cell apoptosis. *European journal of medicinal chemistry*. 2016;124:809-19.
95. Singh TP, Singh OM. Recent progress in biological activities of indole and indole alkaloids. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2018;18(1):9-25.
96. Karimabad MN, Mahmoodi M, Jafarzadeh A, Darehkordi A, Hajizadeh MR, Khorramdelazad H, et al. The novel Indole-3-formaldehyde (2-AITFEI-3-F) is involved in processes of apoptosis induction? *Life sciences*. 2017;181:31-44.
97. parisa h. Investigation of the effect of a novel indole compound on the expression of apoptosis & immortalization genes in acute promyelocytic leukemia cell line (NB4). 2017.
98. Sherer C, Snape TJ. Heterocyclic scaffolds as promising anticancer agents against tumours of the central nervous system: Exploring the scope of indole and carbazole derivatives. *European journal of medicinal chemistry*. 2015;97:552-60.



دانشگاه علوم پزشکی گیلان
تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی

صورتحلیسه دفاع از پایان نامه

تاریخ: ۹۹/۱۱/۱۸

شماره: ۹۴۶

کد اخلاقی:

جلسه دفاعیه پایان نامه خالص پریساملکی کارشناسی ارشد رشته خون شناسی و بانک خون دانشکده پیرایشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان تحت عنوان " بررسی اثر ترکیب سنتزی جدید متشکل از گاباپنتین و ایندول ۳ کربالدهید بر بیان ژن های مسیر نامیرایی ، سیکل سلولی و آپوپتوز رده ی لوسمی لنفوبلاستیک

حاد (NALM۶)

در ساعت ۱۲ روز شنبه مورخ ۹۹/۱۱/۱۸ با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استاد راهنما	دکتر غلامحسین حسن شاهی	
ب: استاد مشاور:	دکتر احمد فاطمی	
ج: استاد مشاور:	دکتر علیرضا فارسی نژاد	
د: استاد مشاور:	دکتر علی دره کردی	
ه: عضو هیات داوران (داخلی)	دکتر روح اله میرزایی	
و: عضو هیات داوران (خارجی)	دکتر عبدالله جعفرزاده	
ز: نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر مهدی زمانلو	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه تأیید شد و نمره ۱۹ مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی
دانشگاه علوم پزشکی گیلان
دانشگاه پیرایشکی